

## P-63

## コーヒー飲用による尿中過酸化水素の排泄

○平本一幸, 木田智子, 菊川清見 (東京薬大・薬)

Urinary excretion of hydrogen peroxide by coffee drinking

Kazuyuki HIRAMOTO, Tomoko KIDA, Kiyomi KIKUGAWA

(School of Pharm. Tokyo Univ. Pharm. and Life Sci.)

【目的】我々はコーヒーに過酸化水素を発生する hydroxyhydroquinone (HHQ) が含まれることを見出した。今回、コーヒー飲用後の尿中の過酸化水素を測定した。【方法】コーヒーは市販の缶コーヒー(187 ml 入り)と中細挽きのコーヒー豆 30g/210 ml 熱湯抽出したコーヒー150 ml を用いた。缶コーヒーあるいは抽出コーヒーを飲用し、飲用前後の尿中過酸化水素を鉄の酸化を利用した比色法によって定量した。

【結果】1杯分のコーヒーを pH 7.4, 37 °C で 1 h 処理すると、缶コーヒー、抽出コーヒーの過酸化水素の量はそれぞれ 150, 120  $\mu\text{mol}$  であった。健康な男女 10 人が缶コーヒーを飲用し 0.5 h 毎に 3 h まで採尿した後に測定すると、尿中過酸化水素は飲用 0.5 h 後から増え、1-2 h 飲用前の 2-11 倍に達し、3 h で飲用前の濃度にまで減少した。過酸化水素を採尿直後に測定すると、飲用前 2.2  $\mu\text{mol/g}$  Cre から飲用 1h 後には 4.5  $\mu\text{mol/g}$  Cre に増加した。同一の尿を室温で 3 h 処理すると飲用前の尿 0.5  $\mu\text{mol/g}$  Cre、飲用後 6.7  $\mu\text{mol/g}$  Cre となった。尿に HHQ 0.1 mM を添加し室温で 2 h 処理すると 34  $\mu\text{M}$  の過酸化水素が発生した。このことは尿中に過酸化水素と HHQ が共に排泄されていることを示している。缶コーヒー、抽出コーヒー飲用後 3 h 尿をプールし、室温 1 h 処理した後測定すると尿中の過酸化水素量はそれぞれ 0.6-0.9 および 0.8  $\mu\text{mol}$  であり、排泄量はコーヒー中の過酸化水素の約 1 % であった。

【考察】コーヒーの飲用により尿中に過酸化水素と HHQ が排泄され、体内でも過酸化水素が発生している可能性が示唆された。

## P-64

## PhIP により誘発されたラット乳癌における Brca1 蛋白の発現低下

○大河内江里子<sup>1</sup>、宮本和明<sup>1</sup>、若園邦子<sup>1</sup>、島 礼<sup>1</sup>、杉村 隆<sup>1</sup>、牛島俊和<sup>1</sup> (<sup>1</sup>国立がんセンター・発がん、<sup>2</sup>北大・遺伝子病制御研)

Reduced Brca1 protein expression in PhIP-induced rat mammary carcinomas.

Eriko OKOCHI<sup>1</sup>, Kazuaki MIYAMOTO<sup>1</sup>, Kuniko WAKAZONO<sup>1</sup>, Hiroshi SHIMA<sup>2</sup>, Takashi SUGIMURA<sup>1</sup>, Toshikazu USHIJIMA<sup>1</sup>(<sup>1</sup>Carcinogenesis Div., Natl. Cancer Center Res. Inst.,<sup>2</sup>Hokkaido Univ. Genetic Medicine Inst.)

ヘテロサイクリックアミンの一つである 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) により誘発したラット乳癌は、ヒト散発性乳癌のモデルとされる。Ha-ras の突然変異が 10-40% 検出され、また、p53 の突然変異がまれに認められるものの、その分子機構は十分にはわかっていない。そこで、ヒト散発性乳癌で認められる Brca1 蛋白の発現低下と、その原因の一つとされるプロモーター領域の過剰メチル化を解析した。ラット Brca1 と交叉する二種類の抗ヒト BRCA1 抗体を用いた免疫組織染色では、検索した PhIP 誘発ラット乳癌 17 個のうち、ほとんど全てで Brca1 蛋白の発現が著明に低下していた。この Brca1 蛋白の発現低下は immunoblotting により確認された。一方、プロモーター領域の過剰メチル化は認められず、mRNA の発現も保たれていた。また、翻訳領域の突然変異も検出されなかった。従って、PhIP 誘発ラット乳癌では、Brca1 mRNA の翻訳効率の低下または Brca1 蛋白の安定性の低下が生じていると考えられた。PhIP 誘発ラット乳癌は、ヒト乳癌のうち、BRCA1 mRNA の発現低下を示さず、蛋白発現の低下を示す群の良いモデルとなると思われる。

## **Urinary excretion of hydrogen Peroxide by coffee drinking**

Kazuyuki HIRAMOTO, Tomoko KIDA, Kiyomi KIKUGAWA (School of Pharm. Tokyo Univ. Pharm. and Life Sci.)

[Object] We have found that hydroxyhydroquinone (HHQ) that generates hydrogen peroxide is included in coffee. Here, we have measured hydrogen peroxide in urine after drinking coffee.

[Method] Commercial canned coffee (187 ml), and coffee obtained by extracting medium-fine ground coffee beans (30 g/210 ml) with hot water (150 ml) were used. The subjects drank the canned coffee or extracted coffee, and hydrogen peroxide in urine was quantified before and after drinking by colorimeter method utilizing oxidation of iron.

[Result] The amounts of hydrogen peroxide in the canned coffee and extracted coffee were found to be 150 and 120  $\mu\text{mol}$ , respectively, by treating a cup of coffee at pH 7.4 and 37°C for 1 h. Ten healthy men and women drank the canned coffee, and urine was collected every 0.5 h up to 3 h and subjected to measurement. The hydrogen peroxide in urine was increased from 0.5 h after drinking and reached 2 to 11-fold as high as the amount at 1 to 2 hours before drinking, and decreased to the concentration before drinking at 3 h. Where hydrogen peroxide was measured immediately after collection of urine, it was increased from 2.2  $\mu\text{mol/g Cre}$  at before drinking to 4.5  $\mu\text{mol/g Cre}$  at 1 h after drinking. Where the same urine was treated at room temperature for 3 h, hydrogen peroxide was 0.5  $\mu\text{mol/g Cre}$  for urine before drinking and 6.7  $\mu\text{mol/g Cre}$  for urine after

drinking. Where 0.1 mM of HHQ was added to urine and treated at room temperature for 2 h, 34  $\mu$ M of hydrogen peroxide was generated. This shows that both hydrogen peroxide and HHQ were excreted into urine. At 3 h after drinking of the canned coffee or extraction coffee, urine was pooled, treated at room temperature for 1 h and subjected to measurement, whereby the amounts of hydrogen peroxide in urine were found to be 0.6 to 0.9 and 0.8  $\mu$ mol, respectively, and the amount of excretion was about 1% of the hydrogen peroxide in coffee.

[Discussion] Hydrogen peroxide and HHQ were excreted into urine by drinking coffee, which suggested a possibility that hydrogen peroxide is also generated in the body.